

УДК 577.214:631.8:633.11

**М. Ю. Шеин, Г. Ф. Бурханова, И. В. Максимов**

*Институт биохимии и генетики  
Уфимского Федерального исследовательского центра РАН,  
450054, Россия, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71,  
mikeshenoda@yandex.ru*

### **ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ *DCL* И *AGO* В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ИНФИЦИРОВАННЫХ *STAGONOSPORA NODORUM* BERK И ПРИ ОБРАБОТКЕ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS* SPP.**

**Ключевые слова:** РНК-интерференция, *Triticum aestivum*, *Bacillus subtilis*, *Stagonospora odorum* Berk, транскрипционная активность генов.

В связи с тем, что патогены наносят ощутимый ущерб урожайности культурных растений, таких как мягкая пшеница - перед научным сообществом на сегодняшний день остро стоит необходимость в разработке эффективных и экологически безопасных средств защиты культурных растений от различных поражающих факторов, к числу которых относятся и заболевания грибной этиологии. Одним из перспективных направлений в данной области является изучение роли компонентов РНК-интерференции (РНКи). Этот уникальный механизм, в котором задействованы рибонуклеазы и короткие интерферирующие РНК (киРНК), эффективно узнающие целевые последовательности «чужеродных» РНК.

Ключевыми компонентами РНКи являются белки DCL и AGO, где первые, обладая РНКазной активностью, иницируют формирование коротких двуцепочечных фрагментов целевых РНК, а вторые, связывая эти фрагменты, используют их в качестве клише для распознавания мРНК генов-мишеней. Имеются данные о роли продуктов генов *Ago* и *DCL* в обеспечении устойчивости растений к вирусным патогенам [1, 2]. Кроме того, имеются данные о способности фитовирусов подавлять РНКи растения-хозяина - так называемом «вирус-индуцированном подавлении экспрессии генов» (англ. virus-induced gene silencing, VIGS) [3]. Есть основания полагать, что данные гены и кодируемые ими белки задействованы в формировании защитного ответа растений и против патогенов грибного происхождения. Например, показана дифференциальная последовательная активация генов *VvDCL1* и *VvDCL3* у винограда при грибном патогенезе [4].

В рамках данной работы нас интересовали изменения в уровне транскрипционной активности генов-компонентов РНКи *Ago1* и *Dcl4* при инфицировании возбудителем септориоза, а также при предобработке семян растения пшеницы бактериями *Bacillus subtilis* 26Д, *B. subtilis* 11Вm и *B. thuringiensis* Bt11. Эксперименты проводили на проростках мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. восприимчивых к возбудителю септориоза сортов Салават Юлаев и Жница, а также устойчивого к патогену сорта Омская 25. Проростки выращивали на 10%-ном растворе Хогланда–Арнона. В эксперименте использовали штамм *B. subtilis* 26Д, *B. subtilis* 11Вm и *B. thuringiensis* Bt11 из коммерческого биопрепарата Фитоспорин–М. Семена перед посадкой обрабатывали суспензией клеток бактериальных штаммов полусухим способом из расчета 20 мкл суспензии клеток с конечным титром 10<sup>8</sup> кл./мл на 1 г семян. Листья инфицировали путем нанесения 4 мкл суспензии пикноспор гриба *Stagonospora nodorum* Berk (10<sup>5</sup> спор/мл) из коллекции лаборатории биохимии

иммунитета растений ИБГ УНЦ РАН. Выделение тотальной РНК из контрольных и опытных растений пшеницы проводили с использованием реагента “Trizol” согласно протоколу фирмы “Sigma” (Германия), из листьев пшеницы, зафиксированных в жидком азоте, через 24 и 72 ч. после инокуляции патогеном. ДНК была получена методом ОТ-ПЦР на матрице, выделенной из образцов РНК. Амплификацию проводили с помощью метода ПЦР в реальном времени на приборе «iCycler iQ5 Real-time PRC Detection System» («Bio-Rad», США) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I. Изменение транскрипционной активности исследуемых генов оценивалось относительно референсных генов *RLI(a)* и *ARF*.

Выявлено, что инфицирование грибом *S. nodorum* Berk приводит к снижению транскрипционной активности генов *Ta\_Ago1* и *Ta\_DCL4* в растениях мягкой пшеницы, что говорит о способности патогена подавлять механизмы РНКи хозяина. Инокуляция штаммами бактерий *Bacillus spp.* растений устойчивой к грибу пшеницы сорта Омская 25, индуцировала транскрипционную активность генов *Ta\_Ago1* и *Ta\_DCL4* к 24 часу после инфицирования в более чем 4-6 раз. Ответная реакция на инфицирование восприимчивого сорта Жница после иммунизации бактериями *Bacillus spp.* происходила в более ранний срок (6 ч.).

Таким образом, полученные нами данные указывают с одной стороны на способность патогенов снижать эффективность защитных систем растений путем ингибирования экспрессии генов РНКи хозяина, и с другой на способность устойчивого сорта противодействовать этому ингибированию.

*Работа финансировалась из средств гранта РФФИ 20-34-90004 Аспиранты.*

### Список литературы

1. Paudel D. B., Ghoshal B., Jossey S. et al. // Virology. 2018. Vol. 524. P. 127.
2. Журнов И. В., Трифонова Е. А, Кочетов А. В. // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17(3). С. 558.
3. Lange M., Yellina A. L., Orashakova S., Becker A. Virus-Induced Gene Silencing: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology / Ed. by A. Becker. Springer Science, New York, 2013. P. 1. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-278-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-278-0_1)
4. Liu Q., Feng Y., Zhu Z. // Functional & Integrative Genomics. 2009. Vol. 9. P. 277.
5. Дорохов Ю. Л. // Мол. биол. 2007. Т. 41(4). С. 579
6. Panwar V., McCallum B., Bakkeren G. // Plant Molecular Biology. 2013. Vol. 81. P. 595–608.
7. Qi T., Guo J., Peng H. et al. // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20. 206.
8. Yin C., Hulbert S. H. // Methods in Molecular Biology. (N. Y.). 2018. Vol. 1848. 139.